

肝硬変における凝固線溶異常の検討

—各種分子マーカーの変動を中心として—

金沢大学医学部内科学第一講座 (主任: 小林健一教授)

西 村 浩 一

(平成4年5月6日受付)

肝硬変における凝固線溶異常の病態を明らかにするために、慢性肝炎 (chronic hepatitis, CH) 34例、肝硬変 (liver cirrhosis, LC) 42例、肝硬変合併肝細胞癌 (hepatocellular carcinoma associated with liver cirrhosis, LC+HCC) 49例の計125例を対象に各種凝固線溶系分子マーカーを測定した。CH では明らかな分子マーカーの変動を認めなかったが、LC、およびLC+HCCでは、正常対照群に比しトロンビン・アンチトロンビンⅢ複合体 (thrombin-antithrombin Ⅲ complex, TAT)、フィブリノペプチドA (fibrinopeptide A, FPA) の有意の上昇が認められ、凝固亢進が示された。また、LC、およびLC+HCCでは、安定化フィブリン分解産物 (cross-linked fibrin degradation products, XDP) の有意な上昇が認められ、線溶亢進も示された。同時に測定した凝固阻害因子であるプロテインC (protein C, PC)、プロテインS (protein S, PS) は、LCにおいて低下しており、肝での蛋白合成能の指標と明らかな相関が認められた。さらに、PCとTATには有意の負の相関が存在することが示され、LCにおける凝固亢進には、肝でのPC産生の低下が関与している可能性が高いと考えられた。一方、線溶活性調節因子である組織型プラスミノゲン・アクチベーター (tissue-type plasminogen activator, t-PA)、プラスミノゲン・アクチベーター・インヒビター-1 (plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1) はLCにおいて上昇しており、かつ、両者の間には有意の正の相関が認められた。また、t-PAは、肝での蛋白合成能の指標と有意の負の相関が認められ、t-PAとTAT、XDPとの間には有意の正の相関が存在することが示されたことから、LCにおける線溶亢進には、凝固活性化にともなう血管内皮細胞からの放出増加のみならず、肝でのt-PA代謝の低下による血中t-PAの上昇も関与している可能性が考えられた。同時に、LCでは、t-PAとの有意の正の相関を示すPAI-1の上昇が認められ、線溶活性の抑制機構も作動している可能性が推測された。なお、プラスミン・ α_2 プラスミンインヒビター複合体 (plasmin- α_2 -plasmin inhibitor complex, PIC) には上昇が認められず、XDPと解離が認められた点については、同時に測定した好中球1細胞当たりのエラスターゼ量 (polymorphonuclear leukocytes elastase index, PMN-E Index) の有意の上昇が認められたことより、LCでは好中球エラスターゼが関与した線溶亢進状態にある可能性が示唆された。LCの病態別検討において、非代償期、とくに腹水を認める群において、TAT、XDP、t-PAの有意の上昇が認められ、また、食道静脈瘤を認める群、および心/肝血流比高値群では、TAT、PIC両者の上昇が同時に認められた。一方、肝細胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) においては、肉眼的進行程度が進行した群においてより高度のTAT、XDPの有意の上昇が認められ、また、血管侵襲を認める群においてPAI-1の有意の上昇が認められた。以上の検討から、LCにおける凝固線溶状態は、肝でのPCの産生低下、および血中t-PAの上昇を基礎に、腹水、門脈圧亢進症、HCCが増悪因子として関与し、凝固線溶亢進状態となっているものと推測された。

Key words liver cirrhosis, molecular markers, coagulation, fibrinolysis

慢性肝疾患、特に肝硬変においては、消費性凝固障害の可能性など種々の凝固学的異常が知られている^{1)~3)}。しかし、肝臓は凝固線溶因子や凝固線溶阻害因子の産生、ならびにこれらの活性化物質や代謝産物の処理にも密接に関与しているため^{4)~7)}、これまでの凝固学的検査法では、各種肝疾患における凝固線溶状態の正確な評価は困難であった。

一方、近年の凝固学的検査法の進歩により、凝固線溶反応の進展過程で生じる種々の分子マーカーの測定が可能となり、凝

固線溶系の状態をより詳細に検討することが可能となった^{8)~10)}。さらに、これらの分子マーカーの変動は、肝予備能の影響が少ないため、肝硬変症における凝固線溶状態が比較的正確に評価可能となった¹¹⁾。

これまですでに、フィブリノペプチドA (fibrinopeptide A, FPA) の上昇^{10)~18)}やトロンビン・アンチトロンビンⅢ複合体 (thrombin-antithrombin Ⅲ complex, TAT) およびプラスミン・ α_2 プラスミンインヒビター複合体 (plasmin- α_2 -plasmin

Abbreviations: Alb, albumin; ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; AT Ⅲ, antithrombin Ⅲ; α_2 PI, α_2 -plasmin inhibitor; CH, chronic hepatitis; ChE, cholinesterase; DIC, disseminated intravascular coagulation; ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay; Esop. varices, esophageal varices; FDP, fibrinogen and/or fibrin degradation products; FPA, fibrinopeptide A; HCC, hepatocellular carcinoma;

inhibitor complex, PIC) の上昇から¹⁹⁾, 肝硬変症では凝固線溶亢進状態が存在すると報告されている。しかし, 一方で, TAT, PIC は上昇は認められなかったとの報告²⁰⁾も存在し, 肝硬変における分子マーカーの変動については未だ一定の見解が得られていない。また, 慢性肝疾患における凝固線溶系分子マーカーと, プロテイン C (protein C, PC), プロテイン S (protein S, PS) などの凝固阻害因子や, 組織型プラスミノゲン・アクチベーター (tissue-type plasminogen activator, t-PA), プラスミノゲン・アクチベーター・インヒビター-1 (plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1) などの線溶活性の調節因子との関連についての検討はなく, 未だ不明な点が多い。

そこで, 今回著者は, 肝硬変をはじめとする各種慢性肝疾患を対象に, 凝固線溶調節因子を含めた各種分子マーカーを同時測定し, 肝硬変における凝固線溶異常の病態とその発生機序についての検討を行い, さらに肝癌を含めた肝硬変の合併症と凝固線溶異常について解析した。

対象および方法

1. 対 象

金沢大学第一内科に入院し腹腔鏡, 肝生検にて診断した慢性肝疾患133例, および正常対照 (Normal) 21例の計154例を対象とした。慢性肝疾患の内訳は慢性肝炎 (chronic hepatitis, CH) 34例 (男性28例, 女性6例, 平均年齢 41.2 ± 17.9 歳), 肝硬変 (liver cirrhosis, LC) 42例 (男性29例, 女性13例, 平均年齢 54.8 ± 10.2 歳), 肝硬変合併肝細胞癌 (hepatocellular carcinoma associated with liver cirrhosis, LC+HCC) 49例 (男性39例, 女性10例, 平均年齢 60.9 ± 8.3 歳) であった。また, 播種性血管内凝固症候群 (disseminated intravascular coagulation, DIC) の診断基準を満たす8例 (男性7例, 女性1例, 平均年齢 59.3 ± 9.6 歳) は全例 LC+HCC 例であった。

LC 42例, および LC+HCC 49例については, 病態別に代償性肝硬変 (compensated liver cirrhosis, LC-C) 69例と非代償性肝硬変 (decompensated liver cirrhosis, LC-D) 22例の2群に分け, 各種分子マーカーを測定し比較検討した。さらに LC-D 22例については, 腹水を認める (腹水群) 16例と認めない (非腹水群) 6例の2群に分け比較検討した。なお, 代償性肝硬変は, 総ビリルビン (total bilirubin, T. Bil) $< 2.0 \text{ mg/dl}$, アルブミン (albumin, Alb) $> 3.5 \text{ g/dl}$ で, 腹水および肝性脳症を認めないものと定義した。また, 食道静脈瘤 (esophageal varices, Esop. varices) の有無, および心/肝血流比²¹⁾ (heart/liver ratio, H/L ratio) により分類した門脈圧亢進症の程度によっても, 各種分子マーカーを測定し比較検討した。すなわち, 食道静脈瘤を認める群 (Esop. varices (+)) 43例, 認めない群 (Esop. varices (-)) 48例の2群, および H/L ratio 0.7以上の高値群44例, および0.7未満の低値群47例の2群に分けそれぞれ比較検討した。

肝細胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 49例については, 原発性肝癌取り扱い規約²²⁾ (日本肝癌研究会) の HCC の肉眼的進行程度 (a staging system for hepatocellular carcinoma by

Liver Cancer Group of Japan, Stage) により肉眼的進行程度 I-II の22例と肉眼的進行程度 III-IV の27例の2群に分け比較検討した。また, HCC の血管侵襲 (vascular involvement, V) の有無により, 血管侵襲を認める (V (+)) 12例と認めない37例 (V (-)) の2群に分け比較検討した。

II. 方 法

1. 測定項目

1) 凝固系

凝固系分子マーカーとして TAT, FPA を, その他の凝固系検査として PC, PS, プロトロンビン時間 (prothrombin time, PT), ヘパプラスチンテスト (hepapl原因 test, HPT) を測定した。TAT は, 抗トロンビン抗体と酵素標識した抗アンチトロンビン III 抗体を用いたエンザイグノスト TAT[®] (ベーリンゲル社, Marburg, Germany) によるサンドイッチ酵素免疫測定法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) で測定した。FPA は, FPA をコーティングしたマイクロプレートに抗体と抗 FPA 抗体を加え, 過剰の抗 FPA 抗体を酵素標識した抗 IgG 抗体で検出するアセラクロム FPA[®] (ベーリンガー・マンハイム山之内, 東京) による ELISA 法 (競合法) で測定した。PC はスタクロムプロテイン C[®] (ベーリンガー・マンハイム山之内) による発色合成基質法で, PS は PS テスト[®] (帝人, 大阪) による ELISA 法でそれぞれ測定した。PT はトロンボプラスチン C[®] (国際試薬株式会社, 神戸) による Quick 1 段法で, HPT はヘパプラスチンテスト[®] (エーザイ, 東京) にてそれぞれ測定した。

2) 線溶系

線溶系分子マーカーとして PIC, 安定化フィブリン分解産物 (cross-linked fibrin degradation products, XDP) を, その他の線溶系検査としてプラスミノゲン (plasminogen, Plg), α_2 プラスミン・インヒビター (α_2 -plasmin inhibitor, α_2 PI), t-PA, PAI-1 を測定した。PIC はプラスミノゲンに対する抗体を固定化したビーズと酵素標識した α_2 アンチプラスミンに対するモノクローナル抗体を用いた PIC テスト「ティジン」[®] (帝人) によるワンステップサンドイッチ ELISA 法で測定した。XDP は抗 D-D ダイマーモノクローナル抗体感作ラテックスを用いたエルピアース D-D ダイマー[®] (ダイアトロン社, 東京) によるラテックス免疫比濁法 (latex photometric immunoassay, LPIA) 法で測定した。t-PA は Imulyse t-PA[®] (BIOPOOL 社, Umea, Sweden) による ELISA 法で, PAI-1 は Imulyse PAI-1[®] (BIOPOOL 社) による ELISA 法でそれぞれ測定した。Plg はラストチーム PLG オート[®] (第一化学薬品, 東京) による発色合成基質法で, α_2 PI はラストチーム APL オート B[®] (第一化学薬品) による発色合成基質法でそれぞれ測定した。

3) その他

Aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), T. Bil, Alb, コリンエステラーゼ (cholinesterase, ChE), 好中球エラスターゼ (polymorphonuclear leukocytes elastase, PMN elastase) についても測定した。PMN elastase は MERCK 社の ELISA キット[®] (Darmstadt,

H/L ratio, heart/liver ratio; HPT, hepapl原因 test; LC, liver cirrhosis; LC-C, compensated liver cirrhosis; LC-D, decompensated liver cirrhosis; LC+HCC, hepatocellular carcinoma associated with liver cirrhosis; LPIA, latex photometric immunoassay; PAI-1, plasminogen activator inhibitor-1; PC, protein C; PIC, plasmin- α_2 -plasmin inhibitor complex; Plg, plasminogen; PMN elastase, polymorphonuclear leukocytes

Germany) によりエラスターゼ・ α_1 プロテアーゼインヒビター複合体として測定した。また、PMN elastase の好中球数に対する比を、好中球 1 細胞当たりのエラスターゼ量 (PMN elastase index, PMN-E Index) とした。

2. 検体

検体は早朝安静時に、3.8% クエン酸ナトリウム加採血管にて採取し 4℃, 3000rpm にて 10 分間遠心後、上清を -80℃ に凍結保存し、検査時溶解した。なお、FPA の検体については、クエン酸ナトリウム + ヘパリン + アプロチニン加採血管にて上記と同様の方法で採取保存し、検査時溶解した。

3. 統計処理

各群の平均値の差の検定は、正規分布を示す場合には対応のない t 検定を用い、正規分布を示さない場合には対応のないノンパラメトリック Wilcoxon 検定を用い、両側検定で危険率 5% 以下の差である場合を統計学的に有意とした。

成 績

1. 各種慢性肝疾患における凝固線溶系マーカーについて

1. 凝固系マーカー

TAT は Normal 群 2.42 ± 0.65 ng/ml, CH 群 2.34 ± 1.4 ng/ml, LC 群 3.29 ± 0.57 ng/ml, LC+HCC 群 4.41 ± 0.50 ng/ml, DIC 群 38.16 ± 9.55 ng/ml であり、LC 群, LC+HCC 群では Normal 群に比しいずれも高値を示しその差は有意であった (いずれも $p < 0.05$)。また、DIC 群では、他の 4 群に比し有意な高値を示し (いずれも $p < 0.01$)、全例 20 ng/ml 以上の著明な上昇を認めた。FPA は Normal 群 1.4 ± 0.4 ng/ml, CH 群 2.3 ± 0.6 ng/ml, LC 群 3.9 ± 0.9 ng/ml, LC+HCC 群 4.9 ± 0.7 ng/ml, DIC 群 11.8 ± 2.5 ng/ml であり、LC 群, LC+HCC 群では Normal 群に比しいずれも高値を示しその差は有意であった (いずれも $p < 0.05$)。また、DIC 群では、他の 4 群に比し有意な高値を示した (いずれも $p < 0.05$) (図 1)。

一方、PC は CH 群, LC 群, LC+HCC 群, DIC 群では Normal 群に比しいずれも低値を示し、また、CH 群, LC 群, LC+HCC 群の順に低下を示し、各群間における差はそれぞれ有意であった ($p < 0.05$)。PS は CH 群, LC 群, LC+HCC

群, DIC 群では Normal 群に比しいずれも低値を示し、また、PC と同様に CH 群, LC 群, LC+HCC 群の順に低下を示し、各群間における差はそれぞれ有意であった ($p < 0.05$) (表 1)。

2. 線溶系マーカー

PIC は Normal 群 0.57 ± 0.10 μ g/ml, CH 群 0.62 ± 0.06

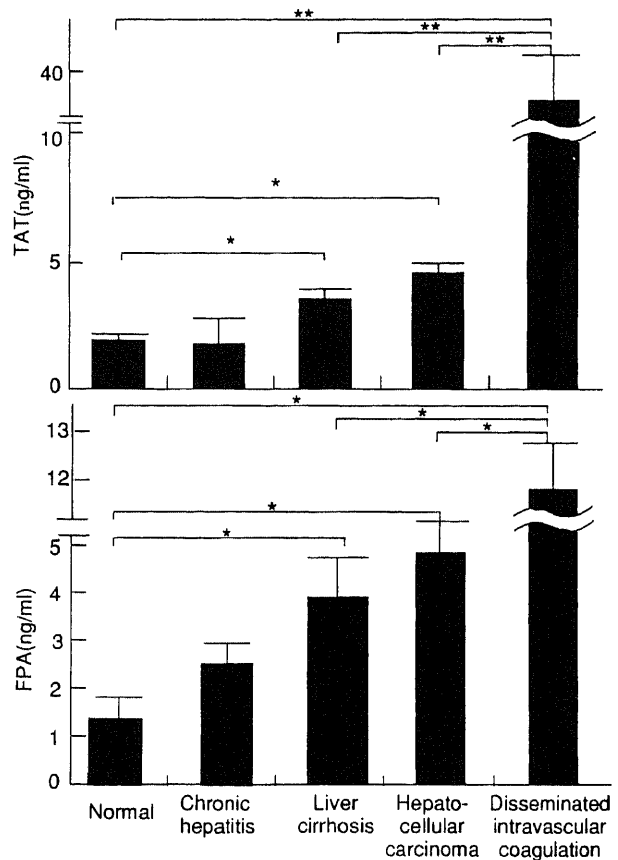


Fig. 1. Plasma levels of thrombin-antithrombin III complex (TAT) and fibrinopeptide A (FPA) in normal subjects and patients with liver disease and disseminated intravascular coagulation (DIC). Values are expressed as mean \pm SEM. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

Table 1. Plasma levels of protein C (PC) and protein S (PS) in normal subjects and patients with liver disease and disseminated intravascular coagulation (DIC)

		PC (%)		PS (μ g/ml)	
Normal	(n=21)	106.1 \pm 7.3	* * * * NS	11.7 \pm 0.4	* * * * NS
CH	(n=34)	78.0 \pm 5.0		9.1 \pm 0.5	
LC	(n=42)	60.9 \pm 3.8		7.7 \pm 0.3	
LC+HCC	(n=49)	46.9 \pm 3.9		6.4 \pm 0.4	
DIC	(n=8)	31.3 \pm 7.8		7.7 \pm 3.0	

Values are expressed as mean \pm SEM. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, NS, not significant. CH, chronic hepatitis; LC, liver cirrhosis; LC+HCC; hepatocellular carcinoma associated with LC.

elastase; PMN-E Index, PMN elastase index; PS, protein S; PT, prothrombin time; Stage, a staging system for hepatocellular carcinoma by Liver Cancer Group of Japan; TAT, thrombin-antithrombin III complex; T. Bil, total bilirubin; Tl, tallium; t-PA, tissue-type plasminogen activator; V, vascular involvement; XDP, cross-linked fibrin degradation products

$\mu\text{g/ml}$, LC 群 $0.58 \pm 0.08 \mu\text{g/ml}$, LC+HCC 群 $0.64 \pm 0.07 \mu\text{g/ml}$, DIC 群 $4.30 \pm 1.35 \mu\text{g/ml}$ であり, DIC 群では他の 4 群に比し高値を示しその差は有意であった (いずれも $p < 0.01$). しかし, LC 群, LC+HCC 群では Normal 群に比し有意の上昇は認められなかった. XDP は Normal 群 $0.68 \pm 0.12 \mu\text{g/ml}$, CH 群 $0.70 \pm 0.06 \mu\text{g/ml}$, LC 群 $1.41 \pm 0.35 \mu\text{g/ml}$, LC+HCC 群 $3.46 \pm 0.90 \mu\text{g/ml}$, DIC 群 $44.93 \pm 10.28 \mu\text{g/ml}$ であり, LC 群, LC+HCC 群, DIC 群では Normal 群に比しいずれも高値を示しその差は有意であった ($p < 0.05$,

$p < 0.05$, $p < 0.001$). また, DIC 群では他の 4 群に比し高値を示し, その差は有意であった (いずれも $p < 0.001$) (図 2).

一方, t-PA は, LC 群, LC+HCC 群では Normal 群に比しいずれも高値を示しその差は有意であった ($p < 0.01$). PAI-1 は, CH 群, LC 群, LC+HCC 群では Normal 群に比しいずれも高値を示しその差は有意であった ($p < 0.05$) (表 2).

3. PMN elastase

PMN elastase は, Normal 群 $125.0 \pm 35.0 \mu\text{g/l}$, CH 群 $132.5 \pm 28.0 \mu\text{g/l}$, LC 群 $150.7 \pm 33.6 \mu\text{g/l}$, LC+HCC 群 $157.8 \pm 43.1 \mu\text{g/l}$ であり, いずれも有意の差は認められなかった. 一方, PMN-E Index については, Normal 群 40.1 ± 10.5 , CH 群

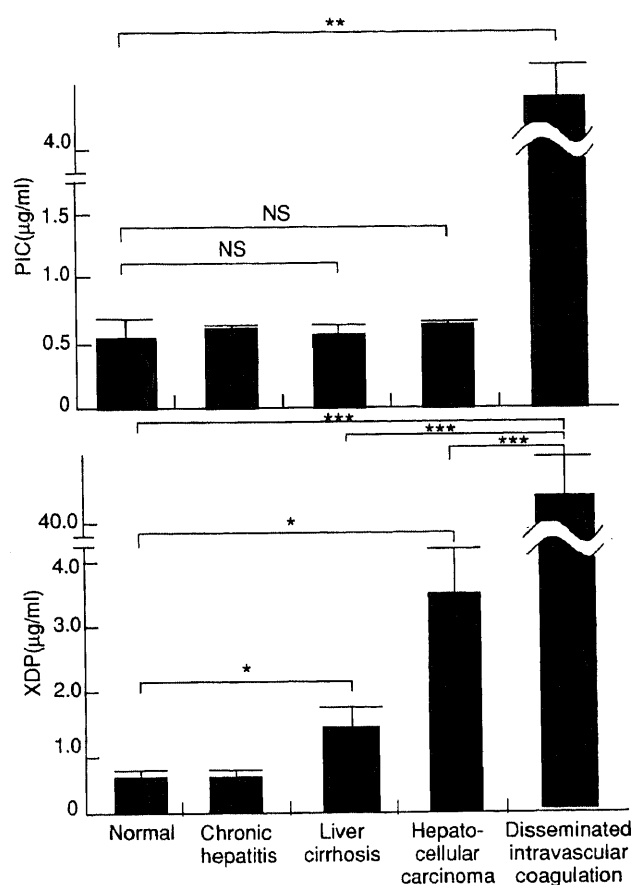


Fig. 2. Plasma levels of plasmin- α_2 -plasmin inhibitor complex (PIC) and cross-linked fibrin degradation products (XDP) in normal subjects and patients with liver disease and disseminated intravascular coagulation (DIC). Values are expressed as mean \pm SEM. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$. *** $p < 0.001$; NS, not significant.

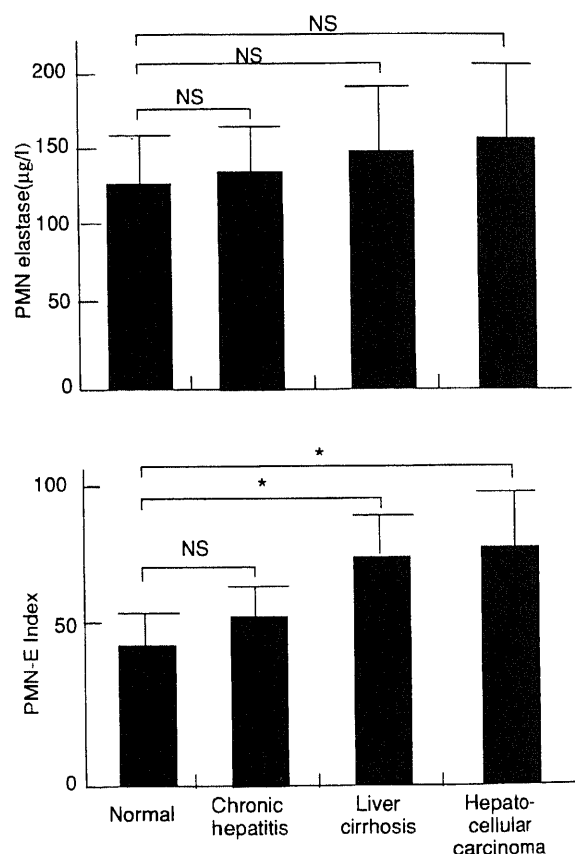


Fig. 3. Plasma levels of polymorphonuclear leukocytes elastase (PMN elastase) and PMN elastase index (PMN-E Index) in normal subjects and patients with liver disease. Values are expressed as mean \pm SEM. * $p < 0.05$; NS, not significant.

Table 2. Plasma levels of tissue-type plasminogen activator (t-PA) and plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) in normal subjects and patients with liver disease

		t-PA (ng/ml)	PAI-1 (ng/ml)
Normal	(n=21)	0.9 ± 0.3	4.7 ± 0.9
CH	(n=34)	1.4 ± 0.3	14.0 ± 3.7
LC	(n=42)	7.4 ± 1.6	11.6 ± 1.6
LC+HCC	(n=49)	14.3 ± 3.9	19.1 ± 4.2

Values are expressed as mean \pm SEM. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$. CH, chronic hepatitis; LC, liver cirrhosis; LC+HCC, hepatocellular carcinoma associated with LC.

50.3±12.3, LC 群 73.5±15.2, LC+HCC 群 74.0±10.5であり, LC群, LC+HCC 群では Normal 群に比しいずれも高値を示し, その差は有意であった (いずれも $p<0.05$) (図 3).

II. PC, PS, t-PA, PAI-1 と凝固線溶系分子マーカーおよび一般肝機能検査との関連について

1. PC, PS と凝固線溶系分子マーカーおよび一般肝機能検査との関係について

表 3 に示すように, PC と PS との間には有意の正の相関が認められた ($r=0.70$, $p<0.01$). また, PC と TAT との間にも有意の負の相関が認められた ($r=-0.28$, $p<0.01$). さらに, PC, PS 両者と HPT, Alb, ChE との間には有意の正の相関が, PT, T. Bil との間には有意の負の相関が認められた (表 3).

2. t-PA, PAI-1 と凝固線溶系分子マーカーおよび一般肝機能検査との関連について

t-PA と TAT, XDP の間には有意の正の相関が認められた (それぞれ $r=0.35$, $p<0.05$, および $r=0.59$, $p<0.01$). また, t-PA と PT との間にも有意の正の相関が, HPT, Alb, ChE との間にも有意の負の相関が認められた.

一方, PAI-1 と t-PA に有意の正の相関が認められた ($r=0.41$, $p<0.01$). しかし, PAI-1 と各種分子マーカーとの間に

は有意の相関は認められなかった. さらに, PAI-1 と, PT, T. Bil との間には有意の正の相関が認められたが, HPT, Alb, ChE との間には有意の相関は認められなかった (表 3).

III. 凝固線溶系分子マーカーと PIg, α_2 PI, AST, ALT との関連について

各種分子マーカーと AST, ALT との間には有意の相関は認められなかった. また, PIC と α_2 PI には, 有意の負の相関が認められた ($r=-0.20$, $p<0.05$) (表 4).

IV. LC の病態と凝固線溶系マーカー

病態別検討において, LC-D 群は LC-C 群に比し TAT, FPA, XDP はいずれも高値を示し, その差は有意であった ($p<0.001$). また, LC-D 群では PC, PS の低下, t-PA, PAI-1, t-PA/PAI-1 比の上昇が認められた. さらに, LC-D 群を腹水群, 非腹水群に分けた検討において, 腹水群では非腹水群に比し TAT, XDP は高値であり, また, t-PA も高値を示し, その差は有意であった ($p<0.05$). しかし, PC, PS および, PAI-1, t-PA/PAI-1 比には両群間に有意の差は認められなかった (表 5).

V. 門脈圧亢進症と凝固線溶系マーカー

門脈圧亢進症の程度による検討において, Esop. varices (+) 群, および H/L ratio 高値群では, TAT, PIC, XDP はい

Table 3. Correlation of protein C (PC), protein S (PS), tissue-type plasminogen activator (t-PA) and plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) with other parameters in patients with liver cirrhosis

	PC	PS	t-PA	PAI-1
TAT	-0.38*	-0.12	0.35*	-0.05
FPA	-0.26	-0.04	0.05	0.03
PC	/	0.70**	-0.49**	-0.15
PS	0.70**	/	-0.40*	-0.14
HPT	0.74**	0.60*	-0.48**	-0.12
PT	-0.54**	-0.54**	0.63**	0.38**
PIC	-0.12	0.24	-0.01	-0.17
XDPA	-0.34**	-0.03	0.59**	0.30
t-PA	-0.49**	-0.40*	/	0.41**
PAI-1	-0.15	-0.14	0.41**	/
PIg	0.81**	0.71**	-0.50**	-0.15
α_2 PI	0.83**	0.64**	-0.59**	-0.33*
AST	0.20	0.16	0.08	0.06
ALT	0.19	0.15	0.10	0.04
T.Bil	-0.39**	-0.36**	0.10	0.34*
Alb	0.61**	0.50**	-0.46**	-0.14
ChE	0.75**	0.67**	-0.54**	-0.18

Values are expressed as correlation coefficients. * $p<0.05$, ** $p<0.01$.

Table 4. Correlation of thrombin-antithrombin III complex (TAT), fibrinogen A (FPA), plasmin- α_2 -plasmin inhibitor complex (PIC) and cross-linked fibrin degradation products (XDP) with other parameters in patients with liver cirrhosis

	TAT	FPA	PIC	XDP
PIg	-0.23**	-0.32	-0.07	-0.18*
α_2 PI	-0.37**	-0.36*	-0.20*	-0.44**
AST	0.12	0.16	0.08	0.11
ALT	0.03	0.05	0.06	0.05

Values are expressed as correlation coefficients. * $p<0.05$, ** $p<0.01$.

Table 5. Plasma levels of thrombin-antithrombin III complex (TAT), fibrinopeptide A (FPA), protein C (PC), protein S (PS), plasmin-alpha₂-plasmin inhibitor complex (PIC), cross-linked fibrin degradation products (XDP), tissue-type plasminogen activator (t-PA), plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1), and t-PA/PAI-1 ratio in patients with compensated or decompensated liver cirrhosis with or without ascites

		LC-C (n=69)		p value	LC-D Ascites (-) Ascites (+) (n=6) (n=16)		p value
TAT	(ng/ml)	3.17±0.37	6.17±0.91	<0.001	3.30±0.37	6.37±1.00	<0.05
FPA	(ng/ml)	3.7 ±0.4	8.1 ±1.6	<0.001	6.1 ±1.7	8.5 ±1.6	NS
PC	(%)	62.4 ±2.9	26.4 ±2.5	<0.001	22.3 ±3.1	27.0 ±2.9	NS
PS	(μg/ml)	7.6 ±0.3	4.8 ±0.5	<0.001	4.6 ±0.4	4.8 ±0.6	NS
PIC	(μg/ml)	0.59±0.05	0.70±0.13	NS	0.77±0.48	0.68±0.14	NS
XDP	(μg/ml)	1.36±0.16	6.15±1.48	<0.001	2.83±2.00	6.81±1.70	<0.05
t-PA	(ng/ml)	6.8 ±0.9	25.7 ±7.4	<0.001	9.0 ±2.4	27.7 ±2.8	<0.05
PAI-1	(ng/ml)	12.7 ±2.3	23.9 ±7.2	<0.05	13.9 ±2.5	24.4 ±7.4	NS
t-PA/PAI-1		1.17±0.26	4.01±0.26	<0.05	3.42±0.25	4.44±2.76	NS

Values are expressed as mean ± SEM. NS, not significant; LC-C, compensated liver cirrhosis; LC-D, decompensated liver cirrhosis.

Table 6. Plasma levels of thrombin-antithrombin III complex (TAT), fibrinopeptide A (FPA), protein C (PC), protein S (PS), plasmin-alpha₂-plasmin inhibitor complex (PIC), cross-linked fibrin degradation products (XDP), tissue-type plasminogen activator (t-PA), plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1), and t-PA/PAI-1 ratio with liver cirrhosis with or without portal hypertension

		Esop. varices (-) (+) (n=48) (n=43)		p value	H/L ratio <0.7 >0.7 (n=47) (n=44)		p value
TAT	(ng/ml)	2.54±0.28	5.10±0.64	<0.001	2.51±0.21	7.32±1.52	<0.001
FPA	(ng/ml)	4.8 ±0.8	7.8 ±3.9	NS	4.0 ±0.7	6.9 ±2.6	NS
PC	(%)	65.8 ±4.5	43.5 ±3.4	<0.001	68.2 ±4.0	44.2 ±3.8	<0.001
PS	(μg/ml)	7.6 ±0.3	6.6 ±0.4	<0.05	7.9 ±0.3	6.3 ±0.3	<0.001
PIC	(μg/ml)	0.46±0.05	0.70±0.09	<0.05	0.52±0.05	0.73±0.07	<0.05
XDP	(μg/ml)	1.05±0.25	3.49±0.84	<0.01	0.80±0.16	7.30±3.28	<0.05
t-PA	(ng/ml)	8.1 ±1.7	13.4 ±3.7	NS	5.1 ±1.1	13.9 ±4.1	<0.01
PAI-1	(ng/ml)	17.1 ±4.1	13.8 ±3.5	NS	15.3 ±2.9	17.5 ±3.7	NS
t-PA/PAI-1		1.29±0.44	2.28±0.96	NS	0.97±0.28	1.98±1.09	NS

Values are expressed as mean ± SEM. NS, not significant; Esop. varices, esophageal varices; H/L ratio, heart/liver ratio on Tl-201 perrectal scintigraphy.

Table 7. Plasma levels of thrombin-antithrombin III complex (TAT), fibrinopeptide A (FPA), protein C (PC), protein S (PS), plasmin-alpha₂-plasmin inhibitor complex (PIC), cross-linked fibrin degradation products (XDP), tissue-type plasminogen activator (t-PA), plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1), and t-PA/PAI-1 ratio in patients with hepatocellular carcinoma

		Stage I - II (n=22)		p value	V (-) V (+) (n=37) (n=12)		p value
TAT	(ng/ml)	3.35±0.65	5.27±0.72	<0.05	4.22±0.53	5.02±1.22	NS
FPA	(ng/ml)	4.5 ±0.7	4.7 ±1.2	NS	2.3 ±0.9	5.3 ±0.8	<0.05
PC	(%)	53.3 ±6.5	42.0 ±5.0	NS	48.4 ±4.6	42.6 ±7.7	NS
PS	(μg/ml)	7.1 ±0.5	5.7 ±0.5	<0.05	6.6 ±0.4	5.8 ±0.9	NS
PIC	(μg/ml)	0.55±0.08	0.70±0.11	NS	0.61±0.08	0.72±0.15	NS
XDP	(μg/ml)	1.44±0.61	4.84±1.40	<0.05	2.67±0.56	5.83±3.23	NS
t-PA	(ng/ml)	11.6 ±2.6	15.5 ±5.6	NS	9.8 ±2.8	15.9 ±5.1	NS
PAI-1	(ng/ml)	14.5 ±5.1	21.6 ±5.9	NS	14.4 ±3.9	34.5 ±10.2	<0.05
t-PA/PAI-1		1.50±0.95	1.20±0.33	NS	1.72±0.44	0.32±0.06	<0.05

Values are expressed as mean ± SEM. NS, not significant; Stage, a staging system for hepatocellular carcinoma by Liver Cancer Study Group of Japan; V, vascular involvement.

ずれも高値を示し、その差は有意であった。また、Esop. varices (+) 群、および H/L ratio 高値群では、PC, PS の低下が認められ、さらに、H/L ratio 高値群では t-PA の上昇が認められた (表 6)。

VI. HCC 進展度と凝固線溶系マーカー

HCC の進展度別検討において、肉眼的進行程度Ⅲ-Ⅳ群では肉眼的進行程度Ⅰ-Ⅱ群に比し、TAT, XDP は高値を、PS は低値を示し、その差は有意であった ($p < 0.05$)。しかし、PC, t-PA, PAI-1, t-PA/PAI-1 比には両群間に有意の差は認められなかった。

一方、HCC の血管侵襲の有無による検討において、V (+) 群では V (-) 群に比し、FPA, PAI-1 は高値を、t-PA/PAI-1 比は低下を示し、その差は有意であった ($p < 0.05$)。しかし、PC, PS には両群間に有意の差は認められなかった (表 7)。

考 察

血液凝固系および線溶系の鍵となる酵素はトロンビンとプラスミンであり、トロンビンはフィブリノーゲンに作用し FPA を遊離させフィブリンを形成する⁹⁾。トロンビンはその一方で、血中の生理的阻害因子であるアンチトロンビンⅢ (antithrombin Ⅲ, ATⅢ) と複合体 (TAT) を形成し不活化される¹⁰⁾¹¹⁾。一方プラスミンは、安定化フィブリンに作用し XDP を形成し¹²⁾、さらに血中の生理的阻害因子である α_2 PI と複合体 (PIC) を形成し不活化される¹³⁾¹⁴⁾。したがって、TAT, FPA の上昇は血中のトロンビン生成の、PIC, XDP の上昇はプラスミン生成の直接のマーカーと考えられる。

今回の検討において、LC および LC+HCC では、凝固系分子マーカーである TAT, および FPA には、正常例に比して有意の上昇が認められ、トロンビン生成の亢進、すなわち凝固亢進の存在する可能性が示された。また、これまでの報告と同様に¹⁰⁾²³⁾、これら分子マーカーの上昇の程度は DIC に比較して軽度であった。

一方、線溶系分子マーカーでは、LC および LC+HCC では、XDP には、正常例に比して有意の上昇が認められ、線溶亢進の存在する可能性が示された。

LC における凝固線溶亢進の機序については未だ定説はないが、1) 凝固線溶阻害因子の低下²⁴⁾、2) 肝細胞壊死による組織トロンボプラスチン様物質の血中への放出²⁵⁾、3) 線溶活性調節因子の関与²⁶⁾²⁷⁾などが推測されている。また、腹水の出現に伴う腹水中のトロンビン、プラスミン活性の存在^{28)~30)}や、門脈圧亢進症に伴う門脈大循環短絡の出現による凝血学的因子の消費の亢進³¹⁾³²⁾などにより、LC における凝固線溶亢進状態が増悪する可能性が指摘されている。

まず、凝固阻害因子の低下に関しては、これまでの報告^{33)~35)}と同様に今回の検討においても、PC, PS は LC において低下しており、また、Alb, ChE, PT, HPT などの肝での蛋白合成能の指標との明らかな相関が認められた。さらに、今回の検討によって、PC と TAT には有意の負の相関が存在することが示された。PC および PS は肝で産生され、血管内皮細胞上のトロンボモジュリン-トロンビン複合体により活性化された PC は、PS を補酵素として活性型 V, VIII 因子を不活化することにより凝固反応を抑制するとされている。したがって、今回の成績からは、LC における凝固亢進には、肝での PC 産生低下が関与している可能性が高いと考えられた。

つぎに、肝細胞壊死の関与に関しては、Takahashi ら¹⁸⁾は急性肝炎例の検討から、肝炎に伴う大量の肝細胞壊死による組織トロンボプラスチン様物質の血中への放出が誘因になり、凝固亢進が出現すると報告している。今回の検討において、LC では TAT, FPA と肝細胞壊死のマーカーである AST, ALT の間には有意の相関は認められず、LC における凝固亢進には、肝細胞壊死の関与する可能性は否定的であると考えられた。

一方、線溶活性調節因子については、今回の検討において、t-PA, PAI-1 はともに LC において上昇しており、かつ、両者の間には有意の正の相関が認められた。また、t-PA は、HPT, Alb, ChE などの肝での蛋白合成能の指標との明らかな相関が認められたが、PAI-1 については相関は認められなかった。さらに、今回の検討によって、t-PA と TAT, XDP との間には有意の正の相関が存在することが示された。t-PA は、血管内皮細胞で産生、分泌され線溶系を活性化しており¹⁾、一方、PAI-1 は、t-PA と特異的に結合することにより、線溶系を抑制している¹⁹⁾。したがって、線溶系の活性化および抑制は t-PA と PAI-1 のバランスにより調節されていると考えられる³⁷⁾。また、t-PA は、血管内皮細胞から産生、放出された後、2-3 分の半減期にて血中より代謝され¹³⁾³⁸⁾、20-30 分後にはその 60-80% が肝臓内の肝実質細胞と肝血管内皮細胞にはほぼ同様に取り込まれ³⁹⁾、ライソゾームにて低分子糖蛋白に分解され、肝外に放出され腎より排泄される⁴⁰⁾。したがって、肝疾患の重症度が増し、有効に機能する肝実質細胞数が減少すれば、肝での t-PA 代謝能が低下し、血中 t-PA が上昇すると考えられる²⁸⁾⁴¹⁾⁴²⁾。さらに t-PA は、トロンビン等による血管内皮細胞への刺激亢進により放出が促進されることが知られている⁴³⁾。したがって、今回の成績から、LC における線溶亢進には、肝機能低下による肝での t-PA 代謝の低下、および凝固活性化にともなう血管内皮細胞からの放出増加による血中 t-PA の上昇が関与している可能性が考えられ、さらに、LC では、t-PA の上昇にともなって PAI-1 が上昇することにより、線溶活性の抑制機構が働いている可能性が推測された。

なお、今回の検討において、LC では、XDP には正常例に比し有意の上昇が認められたが、PIC には有意の変化は認められず、両マーカー間に解離が認められたが、この理由については、1) t-PA-プラスミン系以外の線溶系の関与、2) 肝での α_2 PI の産生が低下しているため⁶⁾、プラスミンが生成されているにもかかわらず、プラスミンとの複合体が形成されず、PIC として検出されない可能性⁴⁴⁾が考えられる。

線溶系の活性化経路としては、t-PA を介して最終的にプラスミンが生成されてフィブリンを分解する t-PA-プラスミン系が主要な経路と考えられているが、近年、白血球、ことに好中球に含まれるエラスターゼも直接フィブリンを溶解することにより、一種の線溶系を形成していることが明らかとなっている^{45)~47)}。斉藤⁴⁸⁾は、急性前骨髄球性白血病において、XDP が高値を示すにもかかわらず PIC が増加しない例では、好中球エラスターゼが増加することを示し、急性前骨髄球性白血病の線溶亢進には好中球エラスターゼが関与している可能性を指摘している。LC の凝血学的異常における好中球エラスターゼの意義についての検討は少なく、不明な点が多い。今回の検討において、LC では好中球エラスターゼは絶対値は正常範囲であったが、好中球 1 細胞当たりのエラスターゼ量は正常例に比し有意な上昇が認められた。好中球エラスターゼは、種々の炎症性疾

患で上昇が認められる^{49)~51)}。しかし、これらの疾患では同時に好中球数の上昇も伴っており、好中球エラスターゼ量と好中球数の間には有意の正の相関が認められ、好中球1細胞当たりのエラスターゼ量はほぼ正常範囲にあると報告されている⁵²⁾。一方、敗血症、DICを伴う症例では好中球1細胞当たりのエラスターゼ量についても有意な上昇が認められ、一般の炎症性疾患の場合とは異なり、このような好中球エラスターゼの増加は、好中球の活性化を示しており、エンドトキシンや血液凝固などがエラスターゼ放出の刺激になりうると報告されている^{52)~54)}。したがって、今回の成績から、LCでは、好中球1細胞当たりのエラスターゼ量の上昇で示される好中球の活性化がおこっている可能性が示唆され、好中球エラスターゼの関与した線溶亢進状態にあるため、PIC、XDPの両マーカー間に解離が認められたものと考えられた。また、今回の成績から、PICと α_2 PIは正の相関を示さず、LCでは、 α_2 PIの低下によりPICが検出されない可能性は否定的であると考えられた。

LCにおける凝固線溶亢進に対する腹水、門脈圧亢進の関与については、LCの病態別検討において、LC-DではLC-Cに比し、TAT、XDP、t-PAの有意の上昇が認められ凝固線溶亢進が示され、さらにLC-Dのうち、腹水を認める群においては腹水を認めない群に比し、TAT、XDP、t-PAの有意の上昇が認められた。これまで腹水の静脈内還流療法では、しばしばDICが引き起こされることが明らかとなっており⁵⁵⁾⁵⁶⁾、また、腹水には強いトロンビン活性⁵⁷⁾やプラスミン活性⁵⁷⁾が存在すると報告されている。この腹水中における凝固線溶亢進は、腹膜中皮細胞からのt-PAの放出増加⁵⁵⁾⁵⁶⁾や、何らかの原因で腹水内へ出血した血液が凝血塊を形成する⁵⁸⁾ことにより出現すると推察されている。さらに、Rueggら⁵⁹⁾は、¹²⁵I-fibrinogenを腹水を有する肝硬変患者の静脈内および腹水中に投与し、これらが相互に移行することを報告している。したがって、今回の成績からは、LC-Dにおける凝固線溶亢進には、腹水の存在が強く関連している可能性が示唆された。一方、食道静脈瘤の認められる群、およびH/L ratio高値群では、TAT、PIC両者の上昇が同時に認められ、トロンビン、およびプラスミンの同時生成が示された。トロンビン、プラスミンが同時に生成される所見は、フィブリン塊の形成と引き続く血管内二次線溶亢進の存在を示唆するものと考えられるが、門脈圧亢進症では、発達した側副血行路や拡張した脾ジヌソイドにおける血流のうっ滞、遅延により局所の血液凝固が亢進する可能性が指摘されている³¹⁾。また、福岡ら³²⁾は、LC患者のフィブリノーゲン寿命を測定し、脾腫、H/L ratioが高度になるにつれ、フィブリノーゲン寿命が短縮することを示し、LCでは、凝血的因子の消費が亢進しており、その消費には脾腫および門脈大循環短絡が密接に関連していると報告している。したがって、今回の成績から、門脈圧亢進症では、食道静脈瘤などの側副血行路における凝固亢進により局所において血管内凝固が出現し、さらに引き続き二次線溶亢進が出現する可能性が推測された。

以上の検討から、LCにおける凝固線溶状態は、肝でのPCの産生低下、および肝でのt-PA代謝の低下、ならびに凝固活性化にともなう血管内皮細胞からの放出増加による血中t-PAの上昇を基礎に、腹水、門脈圧亢進症が増悪因子として関与し、凝固線溶亢進状態となっているものと推測された。

HCCにおける凝固線溶動態については、HCCの進展度による凝固線溶動態の検討において、これまでの報告²⁰⁾と同様に

HCCの肉眼的進行程度が進行するほど、TAT、XDPの有意の上昇が認められ、凝固線溶亢進が示されたが、PAI-1には有意の変化は認められなかった。さらに、血管侵襲の有無による検討において、血管侵襲を認める群で、PAI-1の有意の上昇、およびt-PA/PAI-1比の低下が認められた。HCCにおけるPAI-1の意義については報告が少なく、未だ一定の見解は得られていない。PAI-1は、主に血管内皮細胞で産生放出される⁶⁰⁾が、ヒト肝細胞や肝癌培養細胞株にも存在することが明らかとなっており、HCCでは腫瘍細胞よりPAI-1が産生放出される可能性も推測されている⁶¹⁾。しかし、今回のHCCの肉眼的進行程度別の検討でPAI-1に有意の変化が認められなかったことは、HCCの進展にともない腫瘍細胞からPAI-1の放出が増大する可能性は否定的であると考えられ、HCCにおいては、癌細胞の血管侵襲により血管内皮細胞が刺激されPAI-1が上昇する可能性が推測された。また、線溶系の発現にはPAI-1とt-PAのバランスが重要であり、t-PA/PAI-1比の低下で示されるPAI-1優位な病態はむしろ線溶活性の低下を示していると考えられ、血管侵襲を認めるHCCでは、線溶活性の低下が腫瘍塞栓や血栓の形成、進展に関与しうる可能性も推測された。

各種凝固線溶系分子マーカーの変動を中心として、LCにおける凝固線溶動態について検討を加えたが、現時点においては、これら分子マーカーのクリアランスの経路については明らかとなっておらず、肝、網内系の機能障害によって分子マーカーのクリアランスが低下し、見かけ上の血中濃度の上昇も起こりうる可能性が考えられる⁶²⁾。したがって、これら分子マーカーのクリアランスの機序の解明が進めば、LCにおける凝固線溶異常がさらに正確に把握できうるものと考えられ、今後の検討課題と考えられる。

結 論

肝硬変をはじめとする各種慢性肝疾患、およびDICを対象に各種凝固線溶系分子マーカーを中心に測定し、肝硬変における凝固線溶異常の病態について検討を行ない、以下の結論を得た。

1. LC、およびLC+HCCでは、TAT、FPAの有意の上昇を認め、凝固亢進が存在する可能性を考える。一方、XDPの有意の上昇を認め、線溶亢進も存在する可能性を考える。

2. 同時に測定した凝固阻害因子であるPC、PSは、LCにおいて低下しており、肝での蛋白合成能の指標と明らかな相関を認めた。さらに、PCとTATには有意の負の相関が存在し、LCにおける凝固亢進には、肝でのPC産生の低下が関与している可能性が高いと考える。

3. 線溶活性調節因子であるt-PA、PAI-1はLCにおいて上昇しており、かつ、両者の間には有意の正の相関を認めた。また、t-PAは、肝での蛋白合成能の指標と有意の負の相関を認め、t-PAとTAT、XDPとの間には有意の正の相関が存在することから、LCにおける線溶亢進には、凝固活性化にともなう血管内皮細胞からの放出増加のみならず、肝でのt-PA代謝の低下による血中t-PAの上昇も関与している可能性を考える。同時に、LCでは、t-PAと有意の正の相関を示すPAI-1の上昇を認め、線溶活性の抑制機構も作動している可能性を推測する。

4. LCの病態別検討において、LC-DではLC-Cに比し、TAT、XDP、t-PAの有意の上昇を認め凝固線溶亢進を示した

が、LC-D のうち、腹水を認めない群に比し腹水を認める群においては、TAT, XDP, t-PA の有意の上昇を認め、LC-D における凝固線溶亢進には、腹水の存在が強く関連している可能性を示唆する。

5. 食道静脈瘤の認められる群、および H/L ratio 高値群では、TAT, PIC の上昇を同時に認めたことより、トロンビン、およびプラスミンの同時生成を示し、門脈圧亢進症では側副血路における凝固亢進により局所において血管内凝固が出現し、さらに引き続き二次線溶亢進が出現する可能性を推測する。

6. HCC においては、肉眼的進行程度が進行した群においてより高度の TAT, XDP の上昇を認め、また、血管侵襲を認める群において PAI-1 の有意の上昇、t-PA/PAI-1 比の低下を認めた。したがって、HCC の進展にともなって凝固線溶両者が亢進し、さらに血管侵襲にともない PAI-1 が上昇し、線溶亢進状態が変化する可能性を推測する。

以上より、LC における凝固線溶状態は、肝での PC の産生低下、および血中 t-PA の上昇を基礎に、腹水、門脈圧亢進症、HCC が増悪因子として関与し、凝固線溶亢進状態となっているものと推測される。

謝 辞

稿を終えるに臨み、御指導と御校閲を賜りました恩師小林健一教授に深甚なる謝意を表します。また、終始直接の御指導、御援助を賜りました第一内科鶴浦雅志講師、金子周一助手に心から感謝いたします。さらに、本研究遂行に多大の御協力を戴きました第一内科第二研究室の諸先生に御礼申し上げます。

なお、本論文の要旨は第33回日本消化器病学会大会(1991, 久留米)において発表した。

文 献

- 1) Verstraete, M., Vermeylen, J. & Collen, D.: Intravascular coagulation in liver disease. *Annu. Rev. Med.*, **25**, 447-455 (1974).
- 2) Stein, S. F. & Harker, L. A.: Kinetic and functional studies of platelets, fibrinogen, and plasminogen in patients with hepatic cirrhosis. *J. Lab. Clin. Med.*, **99**, 217-230 (1982).
- 3) Pelzer, H., Schwarz, A. & Heimburger, N.: Determination of human thrombin-antithrombin III complex in plasma with an enzyme-linked immunosorbent assay. *Thromb. Haemostasis*, **59**, 101-106 (1988).
- 4) Korninger, C., Stassen, J. M. & Collen, D.: Turnover of human extrinsic (tissue-type) plasminogen activator in rabbits. *Thromb. Haemostasis*, **46**, 658-661 (1981).
- 5) Brommer, E. J. P., Derkx, k F. H. M., Schalekamp, M. A. D. H., Dooijewaard, G. & vd Klaauw, M. M.: Renal and hepatic handling of endogenous tissue-type plasminogen activator (t-PA) and its inhibitor in man. *Thromb. Haemostasis*, **59**, 404-411 (1988).
- 6) Aoki, N. & Yamanaka, T.: The α 2-plasmin inhibitor levels in liver disease. *Clin. Chim. Acta*, **84**, 99-105 (1978).
- 7) Knot, E., Ten Cate, J. W., Drijfhout, H. R., Kahle, L. H. & Tygat, G. N.: Antithrombin III metabolism in patients with liver disease. *J. Clin. Pathol.*, **37**, 523-530 (1984).
- 8) Nossel, H. L., Yudelman, I., Canfield, R. E., Butler, V. P., Spanondis, K., Wilner, G. D. & Qureshi, G. D.: Measurement of fibrinopeptide A in human blood. *J. Clin. Invest.*, **54**, 43-53 (1974).
- 9) Jean, A., Jeanine, M., Walenga, B. S. & Jawed, F.: Development and performance characteristics of a competitive enzyme immunoassay for fibrinopeptide A. *Semin. Thromb. Hemostasis*, **10**, 228-242 (1984).
- 10) Egbring, R., Seit, R., Blanke, H., Leitis, J., Kesper, H. J., Burghard, R., Fuch, G. & Lerch, L.: The proteinase inhibitor complexes (antithrombin III-thrombin, alpha 2 antiplasmin-plasmin and alpha 1 antitrypsin-elastase) in septicemia, fulminant hepatic failure and cardiac shock: Value for diagnosis and therapy control in DIC/F syndrome. *Behring. Inst. Mitt.*, **79**, 87-103 (1986).
- 11) 山下智省, 安永 満, 佐貫和俊, 村上不二夫, 田中祐子, 白沢宏幸, 小西知己, 福本陽平, 沖田 極, 竹本忠良: 各種肝疾患における血中 Thrombin-antithrombin III 複合体の測定意義. *肝胆脾*, **19**, 841-846 (1989).
- 12) Rylatt, D. B., Blake, A. S., Cottis, L. E., Massingham, D. A., Fletcher, W. A., Masci, P. P., Whitaker, A. N., Elms, M., Bunce, I., Webber, A. J., Wyatt, D. & Bundesen, P. G.: An immunoassay for human D dimer using monoclonal antibodies. *Thromb. Res.*, **31**, 767-778 (1983).
- 13) Harpel, P. C.: α 2-plasmin inhibitor and α 2-macroglobulin-plasma complexes in plasma. *J. Clin. Invest.*, **68**, 46-55 (1981).
- 14) Mimuro, J., Koike, Y., Sumi, Y. & Aoki, N.: Monoclonal antibodies to discrete regions in α 2plasmin inhibitor. *Blood*, **69**, 446-453 (1987).
- 15) Takahashi, H., Hanano, M., Takizawa, S., Tatewaki, W. & Shibata, A.: Plasmin- α 2-plasmin inhibitor complex in plasma of patients with disseminated intravascular coagulation. *Am. J. Hematol.*, **28**, 162-166 (1988).
- 16) Coccheri, S., Mannucci, P. M., Palareti, G., Poggi, M. & Vigano, S.: Significance of plasma fibrinopeptide A and high molecular weight fibrinogen in patients with liver cirrhosis. *Br. J. Haematol.*, **52**, 503-509 (1982).
- 17) Hughes, R. D., Lane, D. A., Ireland, H., Langley, P. G., Gimson, A. E. & Williams, R.: Fibrinogen derivatives and platelet activation products in acute and chronic liver disease. *Clin. Sci.*, **68**, 701-707 (1985).
- 18) 斉藤 博: Fibrinogen-, fibrin-degradation products, fibrinopeptide A, α 2plasmin inhibitor plasmin complex を中心とした肝硬変患者の凝血学的異常の検討. *信州医誌*, **37**, 443-455 (1990).
- 19) Takahashi, H., Tatewaki, W., Wada, K., Yoshikawa, A. & Shibata, A.: Thrombin and plasmin generation in patients with liver disease. *Am. J. Hematol.*, **32**, 30-35 (1989).
- 20) 大元謙治, 山本晋一郎, 井出口清治, 山本亮輔, 高取敬子, 大海庸世, 日野一成, 平野 寛: 慢性肝疾患における

- Thrombin-antithrombin III complex と Plasmin- α 2plasmin inhibitor complex 測定の臨床的意義. 日消誌, 87, 1837-1845 (1990).
- 21) Tonami, N., Nakajima, K., Hisada, K., Tanaka, N. & Kobayashi, K.: A noninvasive method for evaluating portal circulation by administration of Tl-201 per rectum. *J. Nucl. Med.*, 23, 965-972 (1982).
 - 22) 日本肝癌研究会編, 臨床・病理原発性肝癌取り扱い規約, 第2版, 25-26頁, 金原出版, 東京, 1987.
 - 23) Asakura, H., Saito, M., Ito, K., Jokaji, Y., Uotani, C., Kumabashiri, I. & Matsuda, T.: Levels of thrombin-antithrombin III complex in plasma in cases of acute promyelocytic leukemia. *Thromb. Res.*, 50, 895-899 (1988).
 - 24) Rodeghiero, F., Mannucci, P. M., Vigano, S., Barbui, T., Gugliotta, L., Cortellaro, M. & Dini, E.: Liver dysfunction rather than intravascular coagulation as a main cause of low protein C and antithrombin III in acute leukemia. *Blood*, 63, 965-969 (1984).
 - 25) 江畑浩之: 肝細胞癌146例における凝固線溶動態の検討. 肝臓, 26, 618-629 (1985).
 - 26) 前川久登, 吉川雄二, 戸田剛太郎, 岡 博: 肝疾患における血中組織プラスミノゲンアクチベーター (t-PA) の測定と臨床的意義. 日消誌, 87, 62-68 (1990).
 - 27) 森山直哉: 肝疾患における血漿プラスミノゲンアクチベーターインヒビター (PAI-1) の変動と臨床的意義. 聖マリアンナ医科大学雑誌, 18, 142-153 (1992).
 - 28) Salem, H. H., Dudley, F. J., Merrett, A., Perkin, J. & Firkin, B. G.: Coagulopathy of peritoneovenous shunts: studies on the pathogenic role of ascitic fluid collagen and value of antiplatelet therapy. *Gut*, 24, 412-417 (1983).
 - 29) Patrassi, G. M., Santori, M. T., Sgarabotto, D., Sturniolo, G., Boeri, G. & Girolami, A.: A DIC-like picture on plasma and ascitic fluid of cirrhotic patients. *Res. Exp. Med.*, 188, 351-356 (1988).
 - 30) Baele, G., Rasquin, K. & Barbier, F.: Coagulant, fibrinolytic, and aggregating activity in ascites. *Am. J. Gastroenterol.*, 84, 440-443 (1986).
 - 31) Kamisasa, I., Hidai, K., Sugiura, M., Wada, T. & Yamanaka, M.: Effects of splenectomy on blood coagulation and fibrinolysis in patients with liver cirrhosis: possible role of the spleen in haemostasis. *Thromb. Haemostasis*, 42, 1529-1535 (1979).
 - 32) 福岡賢一, 松下文昭, 鶴浦雅志, 田中延善, 加登康洋, 小林健一, 服部 信, 中島憲一, 利波紀久: 肝硬変における凝血学的異常に関する研究—フィブリノーゲン寿命を中心として—. 肝臓, 27, 43-48 (1986).
 - 33) Dangelo, A., Vigano-Dangelo, S., Esmon, C. & Comp, P.: Acquired deficiencies of protein C-protein S activity during oral anticoagulation in liver disease and in disseminated intravascular coagulation. *J. Clin. Invest.*, 81, 1445-1454 (1988).
 - 34) Zurborn, K. H., Kirch, W. & Bruhn, H. D.: Immunological and functional determination of the protease inhibitors, protein C and antithrombin III, in liver cirrhosis and in neoplasma. *Thromb. Res.*, 52, 325-336 (1988).
 - 35) Kelly, D. A., O'Brien, F. J., Hutton, R. A., Tuddenham, E. G., Summerfield, J. A. & Sherlock, S.: The effect of liver disease on factor V, VIII and protein C. *Brit. Haematol.*, 61, 541-548 (1985).
 - 36) Chmielewska, J., Randy, M. & Wiman, B.: Evidence for a rapid inhibitor to tissue plasminogen activator in plasma. *Thromb. Res.*, 31, 427-436 (1983).
 - 37) Kruithof, E. K. O., Tran, T. C., Ransijn, A. & Bachmann, F.: Demonstration of a fast acting inhibitor of plasminogen activators in human plasma. *Blood*, 64, 907-913 (1984).
 - 38) Fuchs, H. E., Berger, H. Jr. & Pizzo, S. V.: Catabolism of human tissue plasminogen activator in mice. *Blood*, 65, 539-544 (1985).
 - 39) Einarsson, M., Smedsrod, B. & Pertoft, H.: Uptake and degradation of tissue plasminogen activator in rat liver. *Thromb. Haemostasis*, 59, 474-479 (1988).
 - 40) Bakhit, C., Lewis, D. & Billings, R.: Cellular catabolism of recombinant tissue-type plasminogen activator. Identification and characterization of a novel high affinity uptake system on rat hepatocytes. *J. Biol. Chem.*, 18, 8716-8720 (1987).
 - 41) 高取正雄: 肝疾患における組織プラスミノゲンアクチベーターの血中変動の臨床的意義. 肝臓, 30, 778-785 (1989).
 - 42) 高取正雄, 岩渕省吾, 鴨川 旭, 森山直哉, 吉田由香, 水口明洋, 須階二郎: 肝硬変, 肝細胞癌における凝固線溶異常に関する研究—とくに組織プラスミノゲンアクチベーター (t-PA) と凝血学的分子マーカーの比較検討. 聖マリアンナ医科大学雑誌, 17, 319-325 (1989).
 - 43) Levin, E. G., Marzec, U. & Anderson, J.: Thrombin stimulates tissue plasminogen activator release from cultured human endothelial cells. *J. Clin. Invest.*, 74, 1988-1995 (1984).
 - 44) 永島佳代子, 田原千枝子, 風間むつみ, 木下忠俊, 滝川一, 大沢 仁, 三宅和彦, 山中知己: 凝血学的分子マーカーよりみた肝疾患時の線溶動態解析. 肝臓, 29 (suppl), 141 (1988).
 - 45) Machovich, R. & Owen, W. G.: The elastase-mediated pathway of fibrinolysis. *Blood Coag. Fibrinol.*, 1, 79-90 (1990).
 - 46) Edward, F. P.: Leukocyte elastase release during blood coagulation. *J. Clin. Invest.*, 69, 542-572 (1982).
 - 47) Sterrenberg, L., Gravesen, M., Haverkate, F. & Nieuwenhuizen, W.: Granulocyte enzyme mediated degradation of human fibrinogen in plasma in vitro. *Thromb. Res.*, 31, 719-728 (1983).
 - 48) 斉藤正典: 白血病における白血球エラスターゼの動態とそのフィブリノーゲン, フィブリン分解に関する研究: 十全医会誌, 98, 716-730 (1989).
 - 49) Hiller, E. & Jochum, M.: Plasma levels of human granulocytic elastase alpha-proteinase inhibitor complex (E-alpha-1-PI) in leukemia. *Blut*, 48, 269-275 (1984).
 - 50) Kleesier, K., Neumann, S. & Greiling, H.: Determination of the elastase alpha-1-proteinase inhibitor complex, elastase activity and proteinase inhibitors in the synovial

fluid. Fresenius. Z. Anal. Chem., 311, 434-435 (1982).

- 51) Schnebil, H. P., Christen, P., Jochum, M., Mallya, R. K. & Pepys, M. B.: Plasma levels of inhibitor-bound leukocyte elastase in rheumatoid arthritis patients. Adv. Exp. Med. Biol., 167, 355-362 (1984).
- 52) 西部俊三, 小川道雄, 高田直樹, 柴田 高, 森 武貞: polymorphonuclear leukocyte elastase 測定のための enzyme-linked immunosorbent assay の特異性と外科疾患患者の血中 immunore active polymorphonuclear leukocyte elastase-al-antitrypsin complex 量. 現代医療, 17, 2348-2353 (1985).
- 53) Plow, E. F.: Leukocyte elastase release during blood coagulation; A potential mechanism for activation of the alternative fibrinolytic pathway. J. Clin. Invest., 69, 564-572 (1982).
- 54) Holman, J. M. & Seba, T. M.: Hepatocyte injury during post-operative sepsis; Activated neutrophils as potential mediators. J. Leukocyte Biol., 43, 193-203 (1988).
- 55) Buller, H. R. & Ten Cate, J. W.: Antithrombin III infusion in patients undergoing peritoneovenous shunt operation: failure in the prevention of disseminated intravascular coagulation. Thromb. Haemostasis, 49, 128-131 (1983).
- 56) Merlo, G., Fausone, G. & Castagna, B.: Fibrinolytic activity of mesothelial lining of the displaced peritonium. Am. J. Med. Sci., 286, 12-14 (1983).
- 57) Patrassi, G. M., Martinelli, S., Sturniolo, G. C., Cappellato, M. G., Vicariotto, M. & Girolami, A.: Fibrinolytic study in plasma and ascitic fluid of cirrhotic patients before and after ascites concentration; reinfusion technique. Europ. J. Clin. Invest., 15, 161-165 (1985).
- 58) 松田道生, 坂田洋一, 照喜名重治, 吉田信彦, 三室 淳: 胸水, 腹水, あるいは消化管出血を伴う患者に認められるフィブリノーゲン, フィブリン分解産物 (FDP) についての考察. 厚生省特定疾患血液凝固異常症調査研究班, 昭和60年度業績集報告 (班長青木延雄), 100-104 頁, 1986.
- 59) Ruegg, R. & Straub, W.: Exchange between extravascularly injected radioiodinated fibrinogen and its in vivo derivatives. J. Lab. Clin. Med., 95, 842-856 (1980).
- 60) Emeis, J. J., van Hinsbergh, V. W. M., Verheijen, I. H. & Wijngaard, G.: Inhibition of tissue-type plasminogen activator by conditioned medium from cultured human and porcine vascular endothelial cells. Biochem. Biophys. Res. Commun., 110, 392-398 (1983).
- 61) Sprengers, E. D., Princen, H. M. G., Kooistra, T. & van Hinsberg, V. W. M.: Inhibition of plasminogen activators by conditioned medium of human hepatocytes and hepatoma cell line Hep G2. J. Lab. Clin. Med., 105, 751-758 (1985).
- 62) Salvatore, V. P.: Serpin receptor 1: a hepatic receptor that mediates the clearance of antithrombin III-proteinase complexes. Am. J. Med., 87, 10-14 (1989).

Evaluation of Coagulo-fibrinolytic Abnormalities in Patients with Liver Cirrhosis: Clinical Evaluation of Molecular Markers related to the Coagulation and fibrinolytic System Kouichi Nishimura, Department of Internal Medicine (I), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. J. J. Med. Soc., 101, 571—582 (1992)

Key words liver cirrhosis, molecular markers, coagulation, fibrinolysis

Abstract

In order to assess the activation of the coagulo-fibrinolytic system in liver cirrhosis (LC), plasma levels of molecular markers in the coagulo-fibrinolytic system were measured in 125 patients with liver diseases (34 patients with chronic hepatitis (CH), 42 with LC, and 49 with LC associated with hepatocellular carcinoma (LC+HCC)). Plasma levels of thrombin-antithrombin III complex (TAT) and fibrinopeptide A were significantly elevated in patients with LC and LC+HCC. Plasma levels of cross-linked fibrin degradation products (XDP) were also significantly elevated in those with LC and LC+HCC, while they were within normal range in CH. Plasma levels of protein C (PC) and protein S were significantly decreased in cirrhotic patients and showed a positive correlation with protein-synthesizing function of the liver. Since PC negatively correlated with TAT, a reduced PC synthesis in the liver suggests that it is important in the activation of coagulation in LC. Plasma levels of tissue-type plasminogen activator (t-PA) and plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) were elevated in cirrhotic patients and positively correlated with each other. Since plasma t-PA levels negatively correlated with protein-synthesizing function of the liver and positively with TAT and XDP, an increase in plasma t-PA levels due to the release from vascular endothelial cells stimulated by intravascular coagulation and the reduction of t-PA clearance by the liver appear to be important factors in the activation of fibrinolysis in LC. Since plasma PAI-1 levels were proportional to t-PA levels, the activation or inhibition of the fibrinolysis was well controlled in LC. In addition, while plasma XDP levels were elevated, no elevation of plasma plasmin- α_2 -plasmin inhibitor complex levels was observed in LC. Since the polymorphonuclear leukocytes elastase index was elevated simultaneously, the polymorphonuclear leukocytes elastase-mediated pathway of fibrinolysis is evidently related to LC. Plasma levels of molecular markers of coagulo-fibrinolytic system were significantly higher in

cirrhotic patients with a decompensated condition especially with ascites, esophageal varices and high heart/liver ratio, than in those with compensated cirrhosis. Patients with advanced HCC showed high TAT and XDP in plasma. Furthermore, plasma PAI-1 levels were significantly elevated in patients with HCC complicated by vascular involvement. In conclusion, the pathogenesis of accelerated coagulation and the fibrinolytic system in LC arose from a reduced PC synthesis in the liver and increase in plasma t-PA. Furthermore, coagulation and fibrinolysis in LC were more accelerated by ascites, portal hypertension and HCC.